Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 1, Spring 2023, p. 167-179

The Effect of Fulvic Acid and Triacantanol Foliar Application on some Biochemical and Physiological Properties and Active Ingredients of *Calendula officinalis*

H. Taghizadeh[1], S. Alizadeh Salteh[2]*, M. Matloobi[3]

Received: 26-12-2021
Revised: 31-05-2022
Accepted: 02-06-2022
Available Online: 06-06-2022

How to cite this article:
Taghizadeh, H., Alizadeh Salteh, S., & Matloobi, M. (2023). The effect of fulvic acid and triacantanol foliar application on some biochemical and physiological properties and active ingredients of *Calendula officinalis*. *Journal of Horticultural Science 37*(1): 167-179. (In Persian with English abstract).
http://doi.org/10.22067/jhs.2022.74365.1119.

Introduction

Marigold *(Calendula officinalis)* is an herbaceous plant belonging to the family Asteraceae. *C. officinalis* is always one of the most widely used medicinal plants and is widely cultivated for its extract in traditional and herbal medicine especially in Iran. Marigold extract has medicinal effects such as wound healing, anti-inflammatory, antibacterial, immune stimulating, anti-tumor and anti-AIDS. To achieve the higher yield and quality in this plant, it's necessary to have enough nutrition. Fulvic acid stimulates plant metabolism, increases enzyme activity as a catalyst in plant respiration, and increases nutrient efficiency and cell pore permeability. On the other hand, triacanthanol is a type of alcohol with a 30-carbon chain and is found naturally in plant epicotyledonous waxes. The use of triacanthanol increases plant dry weight and reduces the content of sugar, amino acids and protein.

Materials and Methods

In order to evaluate the effect of fulvic acid and triacantanol and their interactions on some characteristics of *C. officinalis*, a factorial experiment with 16 treatments and 3 replications was conducted at greenhouse. Experimental treatments consisted of four levels of fulvic acid (0, 0.5, 1, 2 mg / l) as the first factor and four levels of triacantanol (0, 10^{-5}, 5.5×10^{-4}, 10^{-4} M) as the second factor. Treatments were sprayed on the plant three times in the form of foliar spray. Physiological factors were measured during the growing season and after applying the treatments. Finally, at the end of the growing season, plants were sampled to measure the parameters. Yield and fresh and dry weight (at flowering stage and in the form of fully opened flowers), shoot height with a ruler, number of leaves and leaf area were measured with a leaf gauge. Number of flowers by counting the number of flowers from the time of the first flower to the end of the experiment without taking into account the unopened buds, the time required for flowering (early flowering, late flowering) in terms of days by noting the date of the day At the time of emergence, the first flower in each treatment was examined. Acetone at 100% was used to measure photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids) and their absorption was measured at 470, 644.8 and 661.6 nm by spectrophotemeter. The measurement of total phenol was performed using a covalent folate reagent in the absorption spectrum of 765 nm in a spectrophotometer. The flavonoid content of all extracts was measured by aluminum chloride colorimetric method. The absorbance of the samples was read at 415 nm by spectrophotometer. Quercetin was used as the standard to obtain the calibration curve. The flavonoid content of the samples was reported as mg quercetin per

1, 2 and 3- M.Sc. Student and Associate Professors, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultur, University of Tabriz, Tabriz, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: s.alizadeh@tabrizu.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2022.74365.1119

100 g fresh plant weight. DPPH free radical scavenger was used to measure antioxidant activity. The absorbance of the samples was read at 517 nm using a spectrophotometer.

Results and Discussion

Based on the results of this study, it was observed that the foliar application of 10-4 M triacantanol led to an increase in flower yield, leaf area, fresh weight, dry weight, number of flowers, flower height, antioxidant activity, and flavonoid content. On the other hand, the application of 10-5 M triacantanol increased the percentage of evergreen dry matter and phenol content more than the other concentrations. Among the different concentrations of fulvic acid tested, the concentration of 2 mg/l showed the greatest positive impact on the number of leaves, leaf area, fresh weight, dry weight, dry matter percentage, antioxidant activity, and total flavonoid content. Overall, the application of 10-4 M triacantanol and 2 mg/l fulvic acid as a leaf treatment significantly improved most of the measured traits in comparison to the control treatment. It is worth noting that plants treated with 2 mg/l fulvic acid flowered later than the other treatments, and there was a significant interaction between triacanthanol and fulvic acid on flower yield and height.

Conclusion

The results of this study in response to the use of the triacantanol and fulvic acid indicate that the use of these two compounds in foliar spraying can be very useful to achieve sustainable production and achieve organic farming. Triacanthanol promotes growth by regulating many of the genes involved in photosynthesis The use of fulvic acid increases the permeability of the cell membrane and better penetration of nutrients from the membrane. Also, soil permeability to nitrogen uptake increases by plant roots.

Keywords: Antioxidant activity, Flavonoid, Spraying, Yield

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۱، بهار ۱٤۰۲، ص. ۱۷۹-۱٦۷

تأثیر محلول‌پاشی اسید فولویک و هورمون تریاکانتانول بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی و مواد مؤثره گیاه دارویی گل همیشه بهار (*Calendula officinalis*)

هدیه تقی زاده باغچه جوقی[۱] - سعیده علیزاده سالطه[۲]* - منصور مطلوبی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۳/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۲

چکیده

به منظور ارزیابی اثر فولویک‌اسید و تریاکانتانول و اثرات متقابل آن‌ها بر برخی ویژگی‌های گیاه همیشه بهار، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمار و ۳ تکرار در گلخانه انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح فولویک‌اسید (صفر، ۰/۵، ۱، ۲ میلی‌گرم در لیتر) به عنوان فاکتور اول و تریاکانتانول در چهار سطح (صفر، $۱۰^{-۵}$، $۱۰^{-۴}$×۵/۵، $۱۰^{-۴}$مولار) به عنوان فاکتور دوم بودند. تیمارها به صورت محلول‌پاشی برگی در سه نوبت روی گیاه انجام شدند. بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش کاربرد برگی تریاکانتانول $۱۰^{-۴}$ مولار باعث افزایش عملکرد گل‌آذین، سطح برگ، وزن تر و خشک، تعداد گل‌آذین، طول گل‌آذین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فلاونوئید گل‌آذین شد. غلظت $۱۰^{-۵}$ مولار تریاکانتانول میزان درصد ماده خشک و فنول کل را بیشتر از سایر غلظت‌ها افزایش داد. کاربرد غلظت دو میلی‌گرم در لیتر فولویک‌اسید این ماده بیشترین اثر را بر تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و خشک، درصد ماده خشک، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئید کل داشت. در مجموع اثر ساده کاربرد برگی $۱۰^{-۴}$ مولار تریاکانتانول و دو میلی‌گرم در لیتر فولویک‌اسید توانست اکثر صفات اندازه‌گیری شده در این پژوهش را نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری بهبود بخشد. گیاهان تیمار شده با دو میلی‌گرم در لیتر فولویک‌اسید دیرتر از سایر تیمارها گل دادند. اثر متقابل تریاکانتانول × فولویک‌اسید بر عملکرد و ارتفاع بوته معنی‌دار شد. نتایج به دست آمده از این پژوهش در واکنش به مصرف هورمون تریاکانتانول و فولویک اسید بیانگر این است که استفاده از این دو ترکیب به صورت محلول پاشی برگی می‌تواند جهت افزایش عملکرد و خصوصیات فیتوشیمیایی همیشه بهار بسیار مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محلول‌پاشی، عملکرد گل

مقدمه

در فرایند پرورش گیاهان دارویی، ارائه روش‌های مناسب تولید جهت افزایش کمیت و کیفیت این گیاهان حائز اهمیت می‌باشد (Ashraf and Orooj, 2006). امروزه گیاهان دارویی از گیاهان مهم اقتصادی هستند که به‌صورت خام یا فرآوری شده در طب سنتی و مدرن مورد استفاده و بهره‌وری قرار می‌گیرند. بنابراین بسیاری از این گیاهان باید در سطح وسیع کشت شوند و می‌باید یک سری عوامل اساسی درنظر گرفته شود تا گیاه کیفیت و میزان مواد مؤثره خود را حفظ کند (Olaniyi and Odedere, 2009). از آنجا که کمیت و کیفیت مواد مؤثره در گیاهان دارویی علاوه بر کنترل ژنتیکی به شدت تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد (Levitt, 1980)، بررسی تیمارهای مدیریتی و نقش آن‌ها در پیش‌بینی و ارزیابی رشد و عملکرد گیاهان دارویی بسیار ضروری است.

همیشه بهار با نام علمی *Calendula officinalis* یکی از پرکاربردترین گیاهان دارویی است که به‌طور وسیعی به منظور استفاده از عصاره آن در طب سنتی و گیاه درمانی پرورش می‌یابد (Azzaz *et al.*, 2007). عصاره همیشه بهار دارای اثرات دارویی از قبیل التیام

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیاران گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه تبریز
(*- نویسنده مسئول: Email: s.alizadeh@tabrizu.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2022.74365.1119

زخم، ضد التهاب، ضد باکتری، تحریک ایمنی، ضد تومور و ضد ایدز است (Butnariu and Coradini, 2012).

در گیاه دارویی همیشه بهار، محصول اقتصادی موردنظر، عملکرد گل های لوله ای و زبانه ای است که بر روی گل آذین کاپیتول قرار می گیرند در واحد سطح است و مدیریت زراعی بایستی به گونه‌ای باشد که حداکثر میزان محصول به دست آید. تغذیه مطلوب گیاهان و کاهش اثر کمبود عناصر غذایی مهم، یکی از عوامل مؤثربر تولید گیاهان به شمار می‌رود. تأثیر مثبت نیتروژن به عنوان کلاته‌کننده عناصر در افزایش پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار در آزمایشات مختلف گزارش شده است (Al-Badawy *et al.*, 1995). کاربرد مواد هیومیکی در محلول غذایی از طریق افزایش ظرفیت فتوسنتزی، بهبود جذب عناصرغذایی، افزایش کارایی و راندمان عناصرغذایی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (فنول کل)، ضمن افزایش عملکرد، منجر به بهبود و افزایش دوام عمر گل شاخه بریده همیشه بهار گردید (Allahverdi and Nazari deljoo, 2014). تولید مطلوب محصولات کشاورزی نیازمند عناصرغذایی کافی و قابل جذب برای گیاه است. فولویک‌اسید موجب تحریک متابولیسم گیاه، افزایش فعالیت آنزیم به عنوان کاتالیزور در تنفس گیاه می‌باشد و کارایی عناصرغذایی و نفوذپذیری منافذ سلولی را افزایش می‌دهد. فولویک‌اسید مجموعه‌ای از زنجیره‌های آلیفاتیک ضعیف و اسیدهای آلی آروماتیک می‌باشد که در کلیه pHها در آب قابل حل می‌باشد و دارای مولکول‌های کوچکی است که همانطور که این مولکول‌ها وارد گیاه می‌شوند، می‌توانند عناصر ریزمغذی را به همراه خود از سطح گیاه وارد بافت کنند. قدرت تبادل یونی فولویک‌اسید بالاست که به دلیل حضور گروه کربوکسیل (COOH) موجود در ساختار آن است. محلول‌پاشی فولویک‌اسید به همراه عناصر ریزمغذی کلات شده تأثیر زیادی بر بالا بردن کیفیت محصول دارد. حتی کاربرد یک بار فولویک اسید در طول رشد می‌تواند به میزان زیادی عناصر ریزمغذی موردنیاز گیاه را تأمین نماید. این ترکیب دارای سازگاری زیادی با گیاه است. بنابراین هیچ‌گونه سمیتی برای گیاه ایجاد نمی‌نماید. همچنین موجب افزایش تقسیم سلولی و طویل شدن سلول شده و نیز با افزایش سنتز کلروفیل، میزان عملکرد محصول را بالا می‌برد. فولویک اسید موجب افزایش تعداد گل و افزایش محصول می‌گردد (Dixon and Weed, 1989).

تریاکانتانول برای اولین بار در گیاه یونجه (*Medicago sativa* L.) کشف شد (Ries et al., 1982). تریاکانتانول، یک الکل نوع اول با زنجیره ۳۰ کربنه $[CH_3\ (CH_2)_{28}\ CH_2OH]$ است و به طور طبیعی در موم اپی‌کوتیکول گیاه یافت می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که کاربرد تریاکانتانول باعث افزایش وزن خشک گیاه (Knowles and Ries, 1981) و کاهش محتوای قند (Sharma *et al.*, 2002)، آمینواسید و پروتئین می‌شود (Ries *et al.*, 1982). همچنین بر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ (Kumaravelu *et al.*, 2000) و فلورسانس کلروفیل برگ اثر مثبت دارد (Chen *et al.*, 2003). تریاکانتانول به عنوان تنظیم‌کننده رشد گیاهی، به‌طور قابل توجهی رشد و توسعه گیاه را بهبود می‌بخشد. به‌طورکلی تریاکانتانول، آنزیم‌های تنظیم‌کننده رشد (Chen *et al.*, 2003) و فرآیندهای متابولیسمی گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌طوری‌که تریاکانتانول نه‌تنها در شرایط بدون تنش، بلکه در محیط‌های تنش‌زا نیز به عنوان تنظیم‌کننده رشد، باعث بهبود رشد و عملکرد محصول می‌شود. به عنوان مثال، کاربرد خارجی تریاکانتانول نقش مثبتی بر افزایش رشد گیاه ریحان داشته است (Borowski and Blamowski, 2009). کاربرد تریاکانتانول باعث بهبود رشد آفتابگردان نیز شد که ممکن است به دلیل تنظیم ژن‌های مربوط به فتوسنتز و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی باشد که با رهاسازی یک پیام‌رسان ثانویه، باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر متابولیسم کربوهیدرات و پاسخ به بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه شود (Naeem *et al.*, 2006). با این حال، مکانیسم اساسی تریاکانتانول، افزایش سرعت فتوسنتز می‌باشد که ممکن است به دلیل نقش تریاکانتانول در تنظیم فعالیت آنزیم روبیسکو باشد (Houtz *et al.*, 1985). تعدادی از محققان گزارش کرده‌اند که کاربرد تریاکانتانول رشد و عملکرد فتوسنتز، سنتز پروتئین، جذب آب و موادغذایی، تثبیت نیتروژن، فعالیت آنزیم‌ها و محتویات اسیدآمینه‌های آزاد، کاهش قند، پروتئین‌های محلول و ترکیبات فعال اسانس را در محصولات مختلف بهبود می‌بخشد (Naeem *et al.*, 2011). بنابراین هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر تیمارهای فولویک اسید و تریاکانتانول بر صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی و مواد مؤثره گل همیشه بهار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش مطابق جدول ۱ بود.

برای انجام آزمایش ابتدا نشاهای گل همیشه بهار (بذر خریداری شده از شرکت ویلمورین فرانسه) در گلدان‌هایی به قطر ۲۱ و ارتفاع ۱۷ سانتی‌متر و بستر کشت حاوی یک‌ششم کود دامی کاملاً پوسیده، یک‌ششم ماسه بادی و چهار ششم خاک زراعی بعد از الک کردن، کاشته شد. ضدعفونی گلدان‌ها با قارچکش انجام گرفت و در هر گلدان سه بوته کاشته شد.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

Table 1- Physical and chemical characteristics of the tested soil

هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	pH	کربن آلی(٪) OC	نیتروژن N (٪)	فسفر P (mg/kg)	پتاسیم K (mg/kg)	شن Sand (٪)	لای Silt (٪)	رس Clay (٪)
2	7.8	1.2	0.5	36	480	76	18	6

بافت خاک گلدان‌ها شنی لومی بوده و در زمره خاک‌های سبک محسوب می‌شود و از لحاظ هدایت الکتریکی در خاک مذکور هیچگونه خطر شوری وجود نداشته و مقدار فسفر و پتاسیم موجود در آن در حد رضایت‌بخش بود. پس از انتقال نشاهای گیاه همیشه بهار به گلدان‌ها، در شرایط یکسان تا رسیدن به مرحله سه تا چهار برگی برای تیمار، آبیاری شدند و پس از آن تیمارهای فولویک اسید و تریاکانتانول هر کدام در چهار غلظت به مدت سه هفته (یک‌بار در هر هفته) قبل از ظهور گل‌ها اعمال گردید. فولویک‌اسید (صفر، ۰/۵، ۱، ۲ میلی‌گرم در لیتر) و تریاکانتانول (صفر، 10^{-5}، 10^{-4}، $5/5\times10^{-4}$ مولار) به صورت محلول‌پاشی برگی روی گیاه اسپری شدند (جدول ۲). در طول فصل رشد و پس از اثرگذاری تیمارها بر روی گیاهان فاکتورهای فیزیولوژیک اندازه‌گیری شد. نهایتاً در انتهای فصل رشد، نمونه‌برداری از گیاهان جهت اندازه‌گیری سایر پارامترها انجام شد.

جدول ۲- نسبت فولویک‌اسید و تریاکانتانول استفاده شده در تیمارها

Table 2- The Ratio of fulvic acid and triacantanol used in treatments

تیمار Treatment	فولویک اسید (میلی‌گرم بر لیتر) F Fulvic acid	تریاکانتانول (مولار) T Triacantanol
F1T1	0	0
F1T2	0	10^{-5}
F1T3	0	$5.5*10^{-4}$
F1T4	0	10^{-4}
F2T1	0.5	0
F2T2	0.5	10^{-5}
F2T3	0.5	$5.5*10^{-4}$
F2T4	0.5	10^{-4}
F3T1	1	0
F3T2	1	10^{-5}
F3T3	1	$5.5*10^{-4}$
F3T4	1	10^{-4}
F4T1	2	0
F4T2	2	10^{-5}
F4T3	2	$5.5*10^{-4}$
F4T4	2	10^{-4}

عملکرد و وزن تر و خشک (در مرحله گلدهی و به صورت گل کامل باز شده) با ترازوی دقیق دیجیتالی، ارتفاع اندام هوایی با خط-کش، تعداد برگ و اندازه‌گیری سطح برگ با دستگاه سطح برگ‌سنج اندازه‌گیری گردید. شمارش تعداد گل آذین‌ها از زمان پیدایش اولین گل تا زمان پایان آزمایش بدون احتساب غنچه‌های بازنشده انجام شد، زمان لازم تا گلدهی (زود گل‌ده، دیر گل‌ده بودن) بر حسب روز با یادداشت کردن تاریخ روز در زمان پیدایش اولین گل در هر تیمار مورد بررسی قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری و سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید) از استون ۱۰۰ درصد استفاده گردید و جذب آن‌ها در طول موج ۴۷۰، ۶۴۴/۸ و ۶۶۱/۶ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت کلروفیل a (فرمول یک)، کلروفیل b (فرمول دو)، کلروفیل کل (فرمول سه) و کاروتنوئید (فرمول چهار) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Lichtenthaler, 1987).

C_a (μg/ml) = 16.72 $A_{665.2}$ – 9.16 $A_{652.4}$ فرمول (۱)

C_b (μg/ml) = 34.09 $A_{652.4}$ – 9.16 $A_{665.2}$ فرمول (۲)

$C_{(X+C)}$ (μg/ml) = (1000 A_{470} – 1.63 C_a – 104.96 C_b) / 221 فرمول (۳)

C_a= کلروفیل a C_b= کلروفیل b $C_{(X+C)}$ = C_a فرمول (۴)

اندازه‌گیری فنول کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو در طیف جذبی ۷۶۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (Malik and Singh, 1980).

محتوای فلاونوئید کل عصاره‌ها به روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. میزان جذب عصاره نمونه‌ها در طول موج

۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای بـه دسـت آوردن منحنی کالیبراسیون از کوئرستین به عنوان استاندارد استفاده شد. مقدار فلاونوئید نمونه‌ها به صورت میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن تر گیاه گزارش گردید (Chang *et al*., 2002).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH استفاده شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. در نهایت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از فرمول پنج محاسبه گردید.

$$\%DPPH = \frac{Abs\ control - Abs\ sample}{Abs\ control} \times 100 \qquad (۵)\ \text{فرمول}$$

در این فرمول DPPH% درصد بازدارندگی، Abs $_{control}$ میزان جذب DPPH و Abs $_{sample}$ میزان جذب (نمونه + DPPH) می‌باشد (Suh *et al*., 2014).

این آزمایش به صورت فاکتوریل (فولویک‌اسید× تریاکانتانول) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمار و ۳ تکرار در گلخانه انجام شد. محاسبات آماری و رسم نمودارها به ترتیب با استفاده از نرم افزارهای SPSS2 و Excel انجام شد و میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

تأثیر تیمارهای تریاکانتانول بر عملکرد گل همیشه بهار در سطح احتمال پنج درصد و بر وزن تر و خشک و درصد ماده خشک گل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تأثیر تیمارهای فولویک اسید نیز بر وزن تر و خشک در سطح احتمال یک درصد و بر درصد ماده خشک در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی‌دار داشت. اثر متقابل این دو تیمار بر عملکرد در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر کاربرد برگی فولویک‌اسید و تریاکانتانول بر صفات مورفولوژیک گل همیشه بهار

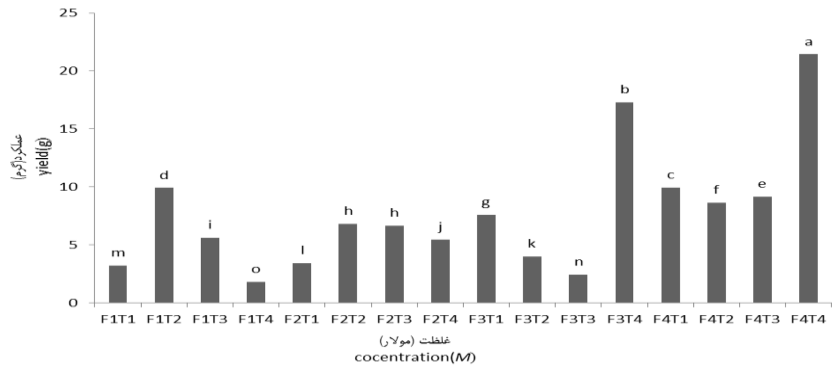
Table 3- ANOVA for foliar applicaton effect of fulvic acid and triacantanol on the morphological traits of *Calendula officinalis*

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین‌مربعات Mean squares								
		ارتفاع بوته Height	زمان گلدهی Flowering time	تعداد گل آذین Number of flower	درصد ماده خشک Percentage of dry matter	وزن خشک Dry weight	وزن تر Fresh weight	سطح برگ Leaf area	تعداد برگ Number of leaf	عملکرد گل آذین Yield
فولویک‌اسید Fulvic acid (F)	3	25.171 ^{ns}	88.083*	318.722 ^{ns}	0.077*	3.211**	8.441**	9245.484*	33496.208*	29.988 ^{ns}
تریاکانتانول Triacantanol (T)	3	221.426*	31.417 ^{ns}	938.167**	1.646**	0.216**	225.738**	19866.750**	8594.147 ^{ns}	96.179*
F× T	9	129.185**	37.269 ^{ns}	352.037 ^{ns}	0.039 ^{ns}	0.010 ^{ns}	0.398 ^{ns}	2553.263 ^{ns}	9951.814 ^{ns}	77.148*
خطا Error	32	43.299	21.875	224.375	0.027	0.023	1.603	2774.614	7962.510	29.218
CV (%)		??	??	??	??	??	??	??	??	??

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، * معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، ns غیرمعنی‌دار

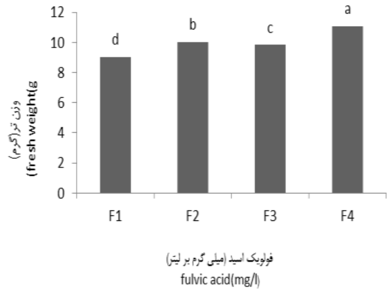
** Significant at 1% of probability level, * Significant at 5% of probability level, ns non-significant

در غلظت 10^{-5} مولار تریاکانتانول عملکرد گیاه نسبت بـه شـاهد کاهش یافته و سپس با افزایش غلظت عملکرد نیز افزایش یافته و در غلظت 10^{-4} مولار به حداکثر مقدار خود رسیده است. اثر متقابل این دو تیمار بر عملکرد نیز معنی‌دار بود، به‌طوری‌که بیشترین عملکرد را گیاهان دریافت‌کننده 10^{-4} مولار تریاکانتانول و دو میلی‌گرم در لیتر فولویک اسید و کمترین مقدار را گیاهان دریافت‌کننده 10^{-4} مولار تریاکانتانول و صفر میلی‌گرم در لیتر فولویک اسید داشتند (شکل ۱). وقتی غلظت بـه 10^{-4} مـولار تریاکانتـانول و دو میلـی‌گـرم در لیتـر فولویک‌اسید رسید، عملکرد در مقایسه با تیمار شاهد به میزان قابل توجهی افزایش یافت. با توجه به شکل ۲ (a، b، c و d) تأثیر تیمارهای فولویک‌اسید و تریاکانتانول بر وزن تر و خشک، بیشترین وزن تر و خشک را در هر دو تیمار گیاهان دریافت کننده 10^{-4} مولار تریاکانتانول و در فولویک‌اسید غلظت دو میلی‌گرم در لیتر داشتند. بیشترین تأثیر تیمارهای فولویک‌اسید بر درصد ماده خشک در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. با توجه به شکل ۷ در غلظت 10^{-5} مولار تریاکانتانول (T_2) درصد ماده خشک به بیشترین مقدار رسیده است و سپس با افزایش غلظت، درصد ماده خشک کاهش یافته است.



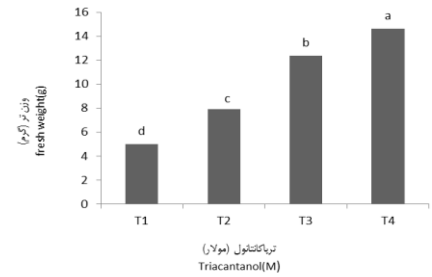
شکل ۱- اثر متقابل سطوح مختلف تریاکانتانول × فولویک‌اسید بر عملکرد گیاه همیشه بهار

Figure 1- Interaction effect of different levels of triacantanol ×fulvic acid on yield of *Calendula officinalis* (DMRT, *p≤0.05*)



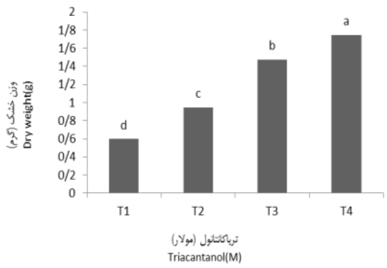
a. تأثیر غلظت‌های فولویک‌اسید بر وزن تر (گرم)

a- The effect of fulvic acid concentrations on fresh weigh



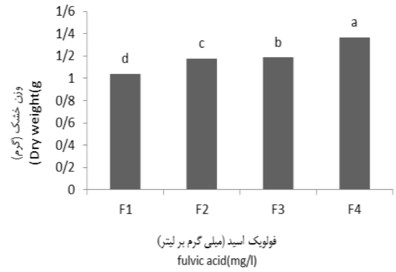
b. تأثیر غلظت‌های تریاکانتانول بر وزن تر (گرم)

b- The effect of triacantanol concentrations on fresh weight



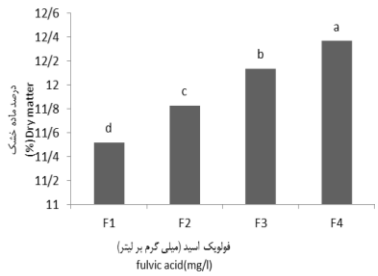
c. تأثیر غلظت‌های تریاکانتانول بر وزن خشک (گرم)

c- The effect of triacantanol concentrations on dry weight



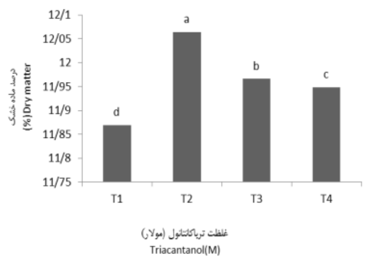
d. تأثیر غلظت‌های فولویک‌اسید بر وزن خشک (گرم)

d- The effect of fulvic acid concentrations on dry weight



e. تأثیر غلظت‌های فولویک‌اسید بر درصد ماده خشک

e- Effect of triacantanol concentrations on dry matter percentage



f. تأثیر غلظت‌های تریاکانتانول بر درصد ماده خشک

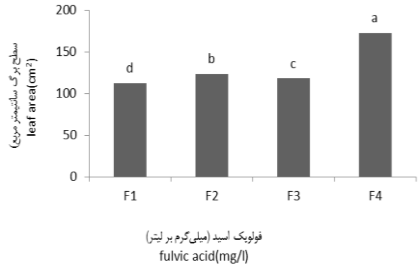
f- Effect of fulvic acid concentrations on dry matter percentage

شکل ۲- اثر سطوح مختلف تریاکانتانول و فولویک‌اسید بر وزن تر، وزن خشک و درصد ماده خشک گل همیشه بهار

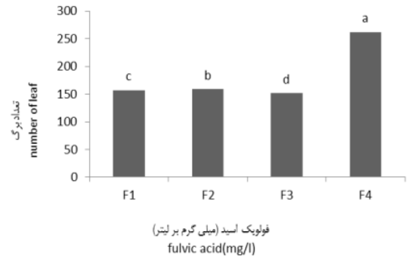
Figure 2- The effect of different levels of triacantanol and fulvic acid on fresh weight, dry weight and dry matter of *C. officinalis* (DMRT, *p≤0.05*)

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

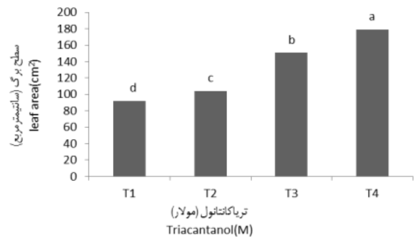
اثر غلظت‌های مختلف فولویک اسید بر پارامترهای تعداد برگ و سطح برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود و اثر تیمار تریاکانتانول در سطح احتمال یک درصد بر صفت سطح برگ معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که گیاهان تیمار شده با غلظت دو میلی‌گرم در لیتر فولویک‌اسید بیشترین تعداد برگ و سطح برگ را داشتند. همچنین بیشترین سطح برگ را گیاهان دریافت کننده 10^{-4} مولار تریاکانتانول داشتند (شکل ۳؛ a, b, c).



b. تأثیر غلظت‌های فولویک‌اسید بر سطح برگ (سانتی متر مربع)
b- The effect of fulvic acid concentrations on leaf area



a. تأثیر غلظت‌های فولویک‌اسید بر تعداد برگ
a- The effect of fulvic acid concentrations on leaf number



c. تأثیر غلظت‌های تریاکانتانول بر سطح برگ (سانتی‌متر مربع)
c- The effect of triacantanol concentrations on leaf area

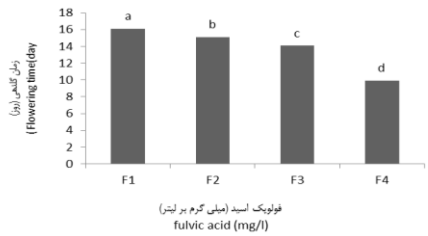
شکل ۳- اثر سطوح مختلف تریاکانتانول و فولویک‌اسید بر سطح برگ و تعداد برگ همیشه بهار

Figure 3- The effect of different levels of triacantanol and fulvic acid on leaf areae and leaf number of *C. officinalis.* (DMRT, *p≤0.05*)

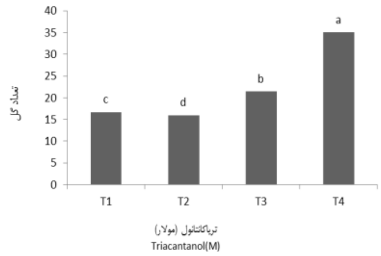
تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

تیمارهای تریاکانتانول بر صفت تعداد گل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین تعداد گل در تیمار 10^{-4} مولار و کمترین تعداد گل در تیمار 10^{-5} مولار مشاهده شد (شکل ۴- a).

همچنین تیمارهای فولویک‌اسید بر صفت زودگلدهی و دیرگلدهی در سطح احتمال پنج درصد تأثیر معنی‌دار داشت، به‌طوری‌که گیاهان تیمار شده با بالاترین غلظت فولویک‌اسید دیرتر از بقیه تیمارها گل دادند، در مقابل تیمار شاهد زودگل‌ده بودند. با افزایش غلظت فولویک اسید گل‌ها دیرتر نسبت به شاهد باز شدند (شکل ۴-b).



b. تأثیر غلظت‌های فولویک‌اسید بر زمان گلدهی
b- Effect of fulvic acid concentrations on flowering time



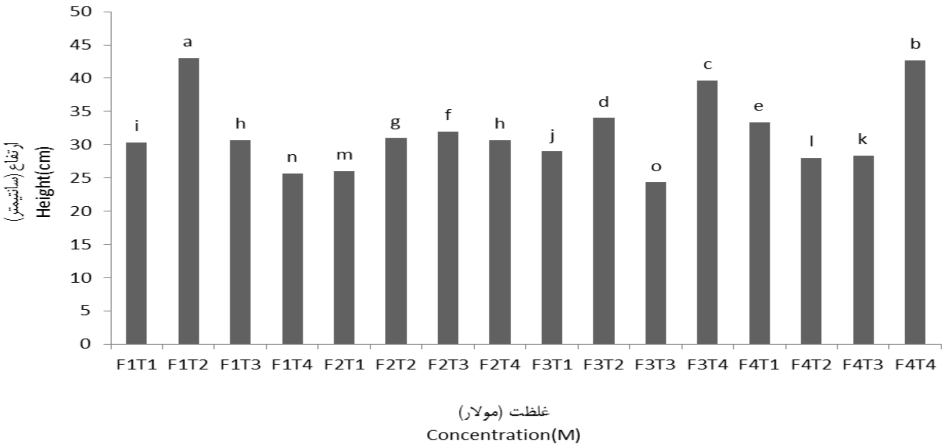
شکل a. تأثیر غلظت‌های تریاکانتانول بر تعداد گل در گلدان
a- Effect of triacanthanol concentrations on flower number

شکل ۴- اثر سطوح مختلف تریاکانتانول و فولویک‌اسید بر تعداد گل و زمان گلدهی گل همیشه بهار

Figure 4- The effect of different levels of triacantanol and fulvic acid on flower number and flowering time of *C. officinalis* (DMRT, *p≤0.05*)

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری بـا یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

با توجه به آنالیز واریانس داده‌هـا مشـاهده شـد کـه اثـر متقابـل تریاکانتانول و فولویک‌اسید در سطح احتمال یک درصد بر ارتفاع گیاه معنی‌دار بود (جـدول ۲). غلظـت‌هـای 10^{-4} مـولار تریاکانتـانول و دو میلی‌گرم در لیتـر فولویـک اسـید، 10^{-5} مـولار تریاکانتـانول و صـفر میلی‌گرم در لیتر فولویک‌اسید مناسب‌ترین تیمار جهت افزایش ارتفـاع بودند (شکل ۵).



شکل ۵- اثر متقابل سطوح مختلف تریاکانتانول × فولویک‌اسید بر ارتفاع بوته گل همیشه بهار

Figure 5- Interaction effect of different levels of triacantanol ×fulvic acid on plant height of *Calendula officinalis*. (DMRT, *p≤0.05*)

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری بـا یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

تریاکانتانول به دلیل تنظیم بسیاری از ژن‌های مرتبط با فتوسـنتز موجب بهبود رشد می‌شود (Singh *et al.*, 2012). اولیـن شـرط لازم برای عملکرد بالای گیاهان، افزایش در بیوماس تولیدی از نظـر مـاده خشک است. تریاکانتانول مانند سایر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بـه عنوان یکی از مهمترین محرک‌های رشد گیاهی شناخته شده اسـت و بسیاری از فرایندهای فیزیولـوژیکی و بیوشـیمیایی گیاهـان را تنظـیم مـی‌کنـد (Perveen *et al.*, 2010). شـدت فتوسـنتز بـه میـزان دی‌اکسیدکربن هوا، دما و شدت نور بسـتگی دارد. یکـی از مهمتـرین عوامل مؤثر در میزان و شدت فتوسـنتز، مقـدار گـاز دی‌اکسـیدکـربن اسـت. تریاکانتـانول از طریـق افـزایش تثبیـت دی اکسـید کـربن و رونویسی بالاتر از ژن روبیسکو در انواع گونه‌های گیاهی باعث بهبـود فتوسنتز و افزایش تجمـع مـواد فتوسـنتزی و وزن گیاهـان مـی‌شـود (Eriksen *et al.*, 1981). طبـق تحقیقـات انجـام شـده، کـاربرد فولویک‌اسید سبب افزایش نفوذپذیری غشا سلول و نفـوذ بهتـر مـواد غذایی از غشا می‌شود. همچنین نفوذپذیری خاک نسبت بـه نیتـروژن باعث افزایش قابلیت جذب خاک توسط ریشه‌های گیاه می‌شود. علاوه بر آن، سبب افزایش جذب پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر توسط گیاه نیز گردیده است. لذا افزایش رشد ریشه و اندام‌های هوایی را می‌تـوان به این ویژگی فولویـک‌اسـید مـرتبط دانسـت (Haghparast *et al.*, 2011).

به نظر می‌رسد گیاهان تیمار شده با تریاکانتانول به دلیل تعمیـر و حفظ پتانسیل آب و افزایش هدایت روزنـه‌ای باعـث افـزایش تثبیـت دی‌اکسیدکربن در بافت مزوفیل برگ می‌شود و در نتیجـه فتوسـنتز و تجمع مـواد افـزایش یافتـه اسـت. ردی و همکـاران (Redy *et al.*, 2002) گزارش کردند این اثرات ممکن است به دلیـل انتقـال سـریع تریاکانتانول در سراسر گیاه و افزایش سوخت و ساز گیاه مـی‌شـود. در نتیجه باعث افزایش قابل توجه رشـد و مـاده خشـک گیـاه مـی‌شـود (Reddy *et al.*, 2002). تریاکانتـانول فعالیـت‌هـای خـاص آنـزیم روبیسکو و آنزیم کربوکسیلاز فسفوانول پیرووات را تحریک می‌کنـد و بالا بودن سطح و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با فتوسـنتز ممکـن اسـت مواد جامد محلول و قند برگ‌ها را افزایش دهد. در نتیجه رشد بـرگ، سطح برگ و تعداد کل برگ افزایش می‌یابد. کـاربرد مـواد هیـومیکی سبب افزایش معنی‌دار در تعداد برگ گیاه دارویی همیشه‌بهـار گردیـد که علت آن فعالیت شبه‌هورمونی مواد هیومیکی بر رشد رویشی بیـان شده است (Aghakhani *et al.*, 2014). افـزایش در تعـداد بـرگ در مراحل ابتدایی رشد و نمو گیاه احتمالاً به دلیل گسترش سریع سیستم ریشه‌ای گیاه در غلظت‌های زیاد مواد هیومیکی می‌باشد، که این خـود منجر به افزایش جذب بیشتر عناصرغذایی، رشد بهتر گیاه و به دنبـال

آن افزایش تعداد برگ می‌گردد (Atiyeh *et al.*, 2002).

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها با افزایش غلظت تریاکانتانول تعداد گل در بوته افزایش یافته است. با توجه به این مطلب به نظر می‌رسد در تیمار عدم مصرف هورمون تریاکانتانول نسبت به تیمار مصرف هورمون مراحل نموی گیاه سریع‌تر طی شده و گیاه فرصت کافی جهت توسعه‌ی سطح برگ و سنتز مواد پرورده نداشته است (Borowski *et al.*, 2000).

تیمارهای تریاکانتانول در سطح احتمال پنج درصد بر صفت ارتفاع معنی‌دار بود و بیشترین ارتفاع را تیمارهای 10^{-4} مولار داشتند. تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی با انتقال انواع سیگنال بین و درون سلول نقش مهمی در رشد و توسعه گیاهان ایفا می‌کنند (Iqbal and Ashraf, 2013). تریاکانتانول رشد و عملکرد گونه‌های مختلف گیاهی را در مراحل مختلف رشد افزایش می‌دهد (Singh *et al.*, 2012) و با افزایش تقسیم و حجم سلول باعث افزایش رشد گیاه می‌شود، ولی معمولاً باعث افزایش طولی سلول می‌شود. در نتیجه باعث افزایش گسترش شاخه‌ها می‌شود. بنابراین تریاکانتانول نقش مهمی در جذب آب، طویل شدن سلول، افزایش تقسیم سلولی و نفوذپذیری غشاء ایفا می‌کند (Hangarter *et al.*, 1978). عزیز و همکاران (Aziz *et al.*, 2013) گزارش کردند که محلول پاشی تریاکانتانول به دلیل افزایش سرعت فتوسنتز باعث افزایش طول و قطر ساقه می‌شود (Aziz *et al.*, 2013). بنابراین طبق نتایج حاصل از این پژوهش، تریاکانتانول به عنوان یک محرک رشد گیاه بر صفت ارتفاع گیاه همیشه بهار اثر مثبت داشته است. مواد هیومیکی از طریق افزایش در محتوای نیتروژن گیاه سبب افزایش رشد و ارتفاع گیاه می‌گردد. همچنین از طریق تأثیر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و نیز با افزایش قدرت کلات‌کنندگی و جذب عناصرغذایی بر افزایش رشد و ارتفاع گیاه مؤثر است (Nardi *et al.*, 2002).

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثرات اصلی و متقابل مشاهده شد که مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کل وکاروتنوئید) تحت تأثیر تیمارهای تریاکانتانول، فولویک‌اسید و اثر متقابل آن‌ها، تغییر معنی‌داری نداشته است (جدول ۴).

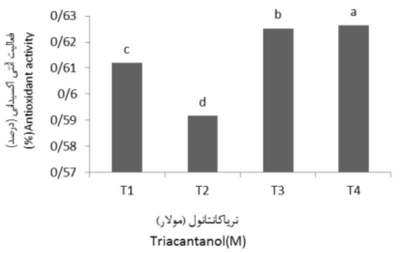
جدول ۴- تجزیه واریانس کاربرد برگی فولویک‌اسید و تریاکانتانول بر صفات بیوشیمیایی گل همیشه بهار

Table 4- ANOVA for foliar applicaton effect of fulvic acid and triacontanol on the biochemical traits of *Calendula officinalis*

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares					
		فنول کل Total phenol	فلاونوئید کل Total flavonoid	فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل Total antioxidant activity	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a
فولویک‌اسید Fulvic acid (F)	3	209.974 ns	0.003**	0.003*	216875.028 ns	24734.423 ns	95295.716 ns
تریاکانتانول Triacontanol (T)	3	1418.944**	0.001*	0.003*	243913.226 ns	28460.288 ns	107470.952 ns
فولویک‌اسید × تریاکانتانول T×F	9	72.832 ns	1.131 ns	18.045 ns	194903.082 ns	22482.736 ns	86427.244 ns
خطا Error	32	55.232	0.000	0.001	243460.515	28729.129	106539.770
CV (%)		????	????	????	????	????	????

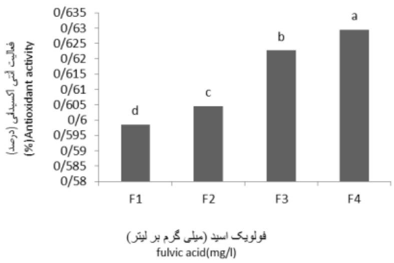
** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، * معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، ns غیر معنی‌دار

Significant at 1% of probability level, * Significant at 5% of probability level, ns non-significant **



a . تأثیر غلظت‌های تریاکانتانول بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی

a- The effect of triacantanol concentrations on antioxidant activity



b. تأثیر غلظت‌های فولویک‌اسید بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی

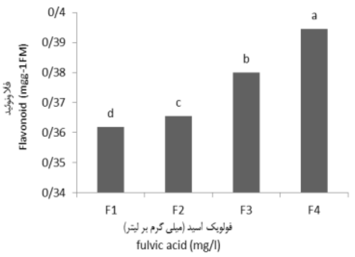
b- The effect of fulvicc acid concentrations on antioxidant activity

شکل ۶- اثر سطوح مختلف تریاکانتانول و فولویک‌اسید بر فعالیت آنتی اکسیدانی همیشه بهار

Figure 6- The effect of different levels of triacantanol and fulvic acid on antioxidant activity of *C. officinalis* (DMRT, *p≤0.05*)

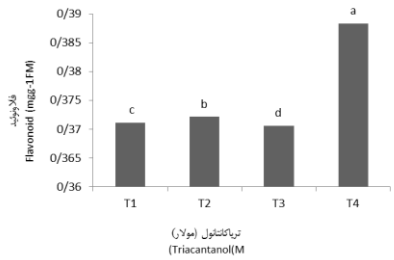
تیمارهای تریاکانتانول و فولویک‌اسید بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی دار داشتند (جدول ۴). تحت تأثیر غلظت $۱۰^{-۵}$ مولار تریاکانتانول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به تیمار شاهد به اندازه ۱/۲ کاهش یافته است (شکل ۶-a)، تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

فولویک‌اسید در سطح احتمال یک درصد بر صفت فلاونوئید کل اثر معنی‌داری داشته است. تریاکانتانول نیز بر فلاونوئید کل در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). با توجه به شکل (۷- a, b) گیاهان دریافت‌کننده بالاترین غلظت فولویک‌اسید (دو میلی‌گرم در لیتر) و بالاترین غلظت تریاکانتانول ($۱۰^{-۴}$مولار)، بیشترین میزان فلاونوئید را در گل همیشه بهار نشان دادند. غلظت‌های مختلف تریاکانتانول، در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری بر فنول کل داشت، به‌طوری‌که بیشترین میزان فنول کل در مقایسه با شاهد در غلظت $۱۰^{-۵}$ مولار تریاکانتانول (T_2) به دست آمد (شکل ۷- c).



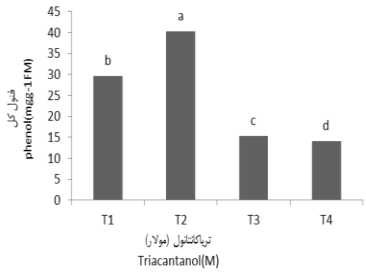
a. تأثیر غلظت‌های فولویک‌اسید بر فلاونوئید

a- Effect of fulvic acid concentrations of flavonoid



b. تأثیر غلظت‌های تریاکانتانول بر فلاونوئید

b- Effect of triacantanol concentrations of flavonoid



c. تأثیر غلظت‌های تریاکانتانول بر فنول کل

c- Effect of triacantanol concentrations on total phenol content

شکل ۷- اثر سطوح مختلف تریاکانتانول و فولویک‌اسید بر وزن تر، وزن خشک و درصد ماده خشک گل همیشه بهار

Figure 7- The effect of different levels of triacantanol and fulvic acid on fresh weight, dry weight and dry matter of *C. officinalis* (DMRT, $p\leq0.05$)

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

با افزایش غلظت در تیمار T_3 و T_4 فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت فولویک‌اسید نیز افزایش نشان داده است. دلیل افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با کاربرد مواد هیومیکی احتمالاً افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله پراکسیداز و کاتالاز بوده است (Ries *et al*., 1982). مواد هیومیکی و فولویکی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی را از طریق گروه‌های هیدروکسیل، فنول‌ها و پلی فنول‌ها که در ساختار خود دارند تحریک می‌کنند و به عنوان بازدارنده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند (Smirnova *et al*., 2012). فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنولی به طور عمده ناشی از ساختار شیمیایی خاص آن‌هاست که به علت دارا بودن گروه‌های هیدروکسیل موجود درحلقه آروماتیک، از طریق اهدای الکترون یا اتم هیدروژن، باعث مهار رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Zhang and Tsao, 2016).

فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها، هیدروکسی سینامیک استرها و لیگنین‌ها از ترکیبات فنولی و جزء متابولیت‌های ثانویه مسیر فنیل پروپانوئید می‌باشند که در بافت‌های گیاهی به فراوانی یافت می‌شوند (Soleckad, 1997). مواد هیومیکی از طریق افزایش سرعت فتوسنتز و تولید کربوهیدرات‌ها به عنوان ترکیبات فنولی مسیرهای بیوسنتزی و سرعت فرایندهای بیوشیمیایی را بیشتر کرده و در نهایت منجر به افزایش میزان ترکیبات فنولی در گیاه می‌گردد (Vaughan and Malcom, 1985). محتوای فنولی برگ نشان‌دهنده‌ی توانمندی گیاه در مهار رادیکال آزاد است که ممکن است این ترکیب برای کمک به

حفظ رشد طبیعی در مراحل مختلف رشد، که از تولید مکرر رادیکال‌های آزاد یا از القای اثرات بد پیری، جلوگیری می‌کند (Dimitrios, 2006). نتایج ما در مورد اثر تریاکانتانول بر فنول کل گل همیشه‌بهار با نتایج برخی از محققین که تیمار تریاکانتانول اثر قابل توجهی بر فنول کل در گیاه گل کاغذی داشت، مطابقت دارد (Khandaker *et al.*, 2013). همچنین در مطالعه‌ی واکاس و همکاران (Waqas *et al.*, 2016)، محلول‌پاشی تریاکانتانول بر پیکره گیاه، با تحریک رشد، سوخت و ساز، تولید فلاونوئیدها و آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)، روابط آبی برگ و افزایش تولید آنتی‌اکسیدان‌ها مشاهده گردید (Waqas *et al.*, 2016). افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) می‌تواند دلیلی بر افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه باشد، به‌طوری‌که این آنزیم به عنوان اولین آنزیم مسیر فنیل پروپانوئید، L-فنیل آلانین را با دی آمیناسیون به ترانس سینامیک اسید تبدیل می‌کند و در ادامه منجر به بیوسنتز متابولیت‌های ارزشمندی نظیر فلاونوئیدها، آنتوسیانین، لیگنین، تانن و سایر ترکیبات فنولی می‌شود.

منابع

1- Aghakhani, Z., Azizi, M., & Aroui, H. (2014). *The effect of Bio- Phosphorus and different levels of humic acid on growth and oil of evening primrose* (*Oenothera biennis* L.), Master Thesis, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian with English abstract)

2- Al-Badawy, A.A., Abdalla, N.M., & El-Sayed, A.A. (1995). Response of *Calendula officinalis* L. plants to different nitrogenous fertilizers, *Horticultural Scientists 30*(4): 195-914.

3- Allahverdi, N., & Nazari deljoo, M.J. (2014). The effect of Humic acid on Morphophysiological indicators, Absorption of nutrients and Durability after harvest of cut Marigold flowers (*Calendula officinalis* L.), *Greenhouse Science and Technology 5*(18): 133-142.

4- Ashraf, M., & Orooj, A. (2006). Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain (*Trachyspermum ammi* L.), *Journal of Arid Environments 64*(2): 209-220. https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.04.015

5- Atiyeh, R.M., Lee, S., & Edwards, C.A. (2002). the influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth, *Bioresource Technology 84*(1): 7-14. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00017-2

6- Aziz, R., Shahbaz, M., & Ashraf, M. (2013). Influence of foliar application of triacontanol on growth attributes, gas exchange and chlorophyll fluorescence in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under saline stress, *Pakistan Journal Botany 45*(6): 1913-1918.

7- Azzaz, N., Hassan, AEA., & Elemarey, F.A. (2007). Physiological, anatomical, and biochemical studies on pot marigold (*Calendula officinalis* L.) plants, *African Crop Science Conference Proceedings* 8: 1727-1738.

8- Borowski, E., Blamowski, Z.K., & Michałek, W. (2000). Effects of Tomatex/TRIA contanol/on chlorophyll fluorescence and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) yields, *Journal of Acta Physiologiae Plantarum 22*(3): 271-274.

9- Borowski, E., & Blamowski, Z.K. (2009). the effects of contanol 'TRIA'and Asahi SL on the development and metabolic activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants treated with chilling, *Folia Horticulturae 21*(1): 39-48.

10- Butnariu, M., & Coradini, C.Z. (2012). Evaluation of biologically active compounds from *Calendula officinalis* flowers using spectrophotometry, *Chemistry Central Journal 6*(35): 1-7.

11- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., & Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, *Journal of Food and Drug Analysis 10*(3): 178-182.

12- Chen, X., Yuan, H., Chen, R., Zhu, L., & He, G. (2003). Biochemical and photochemical changes in response to Triacontanol in rice (*Oryza sativa* L.), *Plant Growth Regulation 40*(3): 249-256.

13- Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants, *Trends in Food Science & Technology 17*(9): 505-512.

14- Dixon, J.B., & Weed, S.B. (1989). *Minerals in Soil Environments*. Soil Science Society of America. Madison Wisconsin.

15- Eriksen, A.B., Sellden, G., Skogen, D., & Nilsen, S. (1981). Comparative analyses of the effect of Triacontanol on photosynthesis, photorespiration and growth of tomato (C3plant) and maize (C4-plant), *Planta 152*(1): 44-49.

16- Haghparast, R., Zangane, Sh., & Rajabi, R. (2011). *Humic and fulvic acid treatments on germination of wheat seeds under drought stress*. The Sixth National Conference on new ideas in agriculture, Branch, March 2011. Islamic Azad University. (In Persian with English abstract)

17- Hangarter, R., Ries, S.K., & Carlson, P. (1978). Effect of Triacontanol on plant cell cultures *in vitro*, *Plant Physiology 61*(5): 855-857.

18- Houtz, R.L., Ries, S.K., & Tolbert, N.E. (1985). Effect of Triacontanol on Chlamydomonas I. Stimulation of growth and photosynthetic CO_2 assimilation, *Plant Physiology 79*(2): 357-364.

19- Iqbal. M., & Ashraf, M. (2013). Gibberellic acid mediated induction of salt tolerance in wheat plants: Growth, ionic partitioning, photosynthesis, yield and hormonal homeostasis, *Environmental and Experimental Botany* 86:76-85. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.06.002.

20- Khandaker, M.M., Faruq, G., Rahman, M.M., Sofian-Azirun, M., & Boyce, A.N. (2013). The influence of 1-TRIAcontanol on the growth, flowering, and quality of potted bougainvillea plants (*Bougainvillea glabra* var. "*Elizabeth Angus*") under natural conditions, *The Scientific World Journal* 1-12.

21- Knowles, N.R., & Ries, S.K. (1981). Rapid growth and apparent total nitrogen increases in rice and corn plants following applications of Triacontanol, *Plant Physiology 68*(6): 1279-1284.

22- Kumaravelu, G., Livingstone, V.D., & Ramanujam, M.P. (2000). Triacontanol-induced changes in the growth, photosynthetic pigments, cell metabolites, flowering and yield of green gram, *Biologia Plantarum 43*(2): 287-290.

23- Levitt, J. (1980). Salt and ion stresses in: Responses of plant to environmental stress. Academic Press, INC.

24- Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes, *Methods in Enzymology* 148: 350-382.

25- Malik, C.P., & Singh, M.B. (1980). *Plant Enzymology and Histo-Enzymology*, Kalyani Publishers, New Delhi.

26- Naeem, M., Khan, M.M.A., & Siddiqui, M.H. (2009). Triacontanol stimulates nitrogen-fixation, enzyme activities, photosynthesis, crop productivity and quality of hyacinth bean (*Lablab purpureus* L.), *Scientia Horticulturae 121*(4): 389-396.

27- Naeem, M., Khan, M.M.A., Idrees, M., & Aftab, T. (2011). Triacontanol-mediated regulation of growth and other physiological attributes, active constituents and yield of *Mentha arvensis* L, *Plant Growth Regulation 65*(1): 195-206. https://doi.org/10.1007/s10725-011-9588-8.

28- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., & Vianello, A. (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants, *Soil Biological Biochemistry 34*(11): 1527-1536.

29- Olaniyi, J.Om., & Odedere, M.P. (2009). The effects of mineral N and compost fertilizers on the growth, yield and nutritional values of fluted pumpkin (*Telfairia occientalis*) in south western Nigeria, *Journal of Animal and Plant Sciences 5*(1): 443-449.

30- Perveen, S., Shahbaz, M., & Ashraf, M. (2010). Regulation in gas exchange and quantum yield of photosystem II (PSII) in saltstressed and non-stressed wheat plants raised from seed treated with triacontanol, *Pakistan Journal of Botany 42*(5): 3073-3081.

31- Reddy, B.O., Giridhar, P., & Ravishankar, G.A. (2002). The effect of triacontanol on micropropagation of *Capsicum frutescens* and Decalepis hamiltonii W and A, *Plant Cell Tissue Organ Culture 71*(3): 253–258.

32- Ries, S.K., Wert, V.F., & Houtz, R. (1982). Rapid in vivo and in vitro effects of Triacontanol, *Journal of Plant Growth Regulation* 1: 117-127.

33- Sarkar, F. (2017). *Effect of foliar application of methyl jasmonate and folic acid on the biochemical and antioxidant properties of cherry cultivar Gisi*, Master Thesis, University of Zanjan. (In Persian with English abstract)

34- Sharma, M.K., Joolka, N.K., & Sharma, N. (2002). Effect of Triacontanol and paclobutrazol on photosynthetic efficiency, carbohydrate metabolism and leaf nutrient status of nonpareil almond, *Progressive Horticulture 34*(1): 117-118.

35- Singh, M., Khan, M.M.A., Moinuddin., & Naeem, M. (2012). Augmentation of nutraceuticals, productivity and quality of ginger (*Zingiber officinale Rosc*.) through Triacontanol application, *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology 146*(1): 106-113. https://doi.org/10.1080/11263504.2011.575891.

36- Smirnova, V., Efimova, I.V., & Khilko, S.L. (2012). Antioxidant and pro-oxidant activity of ascorbic and humic acids in radical-chain oxidation process, *Russian Journal of Applied Chemistry 85*(2): 252-255. https://doi.org/10.1134/S1070427212020164.

37- Soleckad, D. (1997). Role of phenylopropaniod compounds in plant responses to different stress factors, *Acta Physiology of Plant 19*(3): 257-268.

38- Suh, S.S., Hwang, J., Park, M., Park, H.S., & Lee, T.K. (2014). Phenol content, antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mangrove plants in Micronesia, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 7: 531-735. https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60089-4.

39- Vaughan, D., & Malcom, R.E. (1985). Influence of humic substances on growth and physiological processes. In: Vaughan D., Malcom R.E. (Eds.) *Soil Organic Matter and Biological Activity*. Martinus Nijhoff/ Junk W, Dordrecht, the Netherlands, 37-76.

40- Waqas, M., Shahzad, R., Khan, A.L., Asaf, S., Kim, Y.H., Kang, S.M., Bilal, S., Hamayun, M., & Lee, I.J. (2016). Salvaging effect of Triacontanol on plant growth, thermotolerance, macro-nutrient content, amino acid concentration and modulation of defense hormonal levels under heat stress, *Plant Physiology and Biochemistry* 99: 118-125. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.12.012

41- Zhang, H., & Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and antiFlammatory effects, *Current Opinion in Food Science* 8: 33-42. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.02.002.